Ein Beitrag zur Kenntnis chromogener Spaltpilze und ihres Vorkommens in der Mundhöhle.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen philosophischen Fakultät

der

kgl. bayer. Friedrich-Alexanders-Universität zu Erlangen

vorgelegt

von

Martin Freund

aus Görlitz.

Erlangen.
K. b. Hofbuchdruckerei von Aug. Vollrath.
1893.

Gedruckt mit Genehmigung der philosophischen Fakultät.

Referent: Herr Professor Dr. Reess.

Seinen teuren Eltern

in

Liebe und Dankbarkeit

vom Verfasser.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535711_0127

Als COHN im Jahre 1872 sein System der Bakterien aufstellte, waren ihm nur chromogene Micrococcen bekannt; er reihte daher dieselben als eine physiologische Spezies „Pigmentbakterien“ der Gattung Micrococcus ein. Kurze Zeit darauf wurde der Bacillus ruber entdeckt, und COHN[1]) fand die Färbung desselben insofern interessant, „als Bacillen noch nicht als Pigmentbakterien beobachtet worden sind“. Jetzt überwiegen die chromogenen Bacillen bei weitem an Zahl die chromogenen Micrococcen. Diese Thatsache findet ihre Erklärung einerseits darin, dass inzwischen eine Anzahl farbstoffbildender Micrococcen als Bacillen erkannt worden sind, wie dies zum Beispiel beim Micrococcus prodigiosus seu Bacillus prodigiosus der Fall ist; andrerseits sind in den letzten zwei Dezennien eine grosse Anzahl neuer, chromogener Spaltpilze aufgestellt worden, unter denen sich fast nur Bacillen finden. Neben COHN war es vor allem SCHRÖTER[2]), welcher für eine ganze Reihe von Pigmenten bestimmte Spaltpilze als alleinige Ursache feststellte. Ihre Zahl ist durch FLÜGGE[3]) noch besonders vermehrt worden.

Aber trotz der grossen Anzahl derjenigen Spaltpilze, von denen es bekannt ist, dass sie Pigmente als spezifische Stoffe ausscheiden, ist die Natur der Ab-

[1]) Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen; Bd. I. Heft 3 pag. 181.

[2]) Schröter, „Über einige durch Bakterien gebildete Pigmente“ in Cohns Beiträgen Bd. I. Heft 2 p. 109.

[3]) Flügge, „Die Mikroorganismen“.

scheidung, d. h. des Farbstoffes selbst, noch sehr wenig aufgeklärt. So ist es eine strittige Frage, ob der Farbstoff der Membran, dem Inhalt der Zelle oder den die Zelle umgebenden Schleimmassen angehört. Nach NÄGELI[1]) ist der Sitz des Farbstoffes in den Zellmembranen zu suchen. COHN[2]) scheidet zunächst die Pigmentbakterien in zwei Klassen, je nachdem die Farbstoffe in Wasser löslich sind oder nicht. Bei der ersteren Klasse wird auch das Medium gefärbt, auf dem der Pilz gedeiht; und COHN nimmt nun an, dass hier der Farbstoff entweder zunächst in den lebenden Zellen gebildet und dann in die Nährflüssigkeit ausgeschieden wird, oder auch aus der Nährflüssigkeit direkt unter dem Einfluss der Bakterien erzeugt wird. Bei der zweiten Klasse soll das Pigment in den Zellen selbst enthalten sein.

Nach FLÜGGE[3]) ist dagegen die Vorstellung berechtigt, dass „alle Pigmente nicht als solche von den Pilzen produziert werden, sondern dass letztere nur eine chromogene Substanz liefern, die sich erst durch Sauerstoffeinwirkung in den Farbstoff verwandelt".

Dass der Zutritt von Sauerstoff zur Pigmentbildung unbedingt nötig ist, wies SCHRÖTER[4]) beim Bacillus prodigiosus nach, und LIBORIUS[5]) stellte durch seine Untersuchungen fest, dass schon bei mässiger Behinderung des Sauerstoffzutritts durch eine sterilisierte Ölschicht die Spaltpilzkolonieen farblos bleiben, während ihr übriges Wachstum keine Beeinträchtigung erfährt.

Über die chemische Beschaffenheit der Pigmente liegen neuere Untersuchungen nicht vor. Von den meisten

---

[1]) Nägeli, „Untersuchungen über niedere Pilze" p. 20.

[2]) Cohn, „Beiträge" Band I. Heft 2 p. 152, 209.

[3]) Flügge, „Die Mikroorganismen" p. 455, 456.

[4]) Schröter in „Cohns Beiträgen" Band I. Heft 2 p. 111.

[5]) Liborius, „Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien." Zeitschrift für Hygiene Band I. p. 156.

Pigmenten sind nur ihre Reaktionen gegen Säuren und Alkalien bekannt. Für den roten Farbstoff des Bacillus prodigiosus und den blauen Farbstoff des Bacillus cyanogenus zeigte ERDMANN[1]), dass dieselben in sehr naher chemischer und spektroskopischer Beziehung zu den Anilinfarbstoffen, dem Rosanilin und Triphenylrosanilin, stehen. Am genauesten ist in chemischer Hinsicht der Farbstoff des grünblauen Eiters bekannt, den FORDOS aus blauen Verbandstücken gewann und Pyocyanin nannte, während GESSARD 1882 den Bacillus pyocyaneus als Urheber dieser Verfärbung entdeckte. GESSARD stellte den chemischen Charakter des Farbstoffes dahin fest, dass derselbe eine Base ist, die den Ptomaïnen sehr nahe steht.

Auf die Bildung des Farbstoffes hat die Zusammensetzung des Nährsubstrates einen bedeutenden Einfluss, indem auf verschiedenen Nährböden nicht nur andere Nüancierungen eines bestimmten Pigmentes, sondern auch sehr stark abweichende Färbungen beobachtet werden. Hierfür bietet der soeben erwähnte Bacillus pyocyaneus ein sehr gutes Beispiel. Derselbe kann nach GESSARD's[2]) Untersuchungen drei verschiedene Pigmente bilden:

I. auf Eiweiss eine grüne Fluorescenz,
II. in Bouillon eine grüne Fluorescenz und das Pyocyanin,
III. in Pepton mit Glycerinzusatz das Pyocyanin und ein grünes Pigment.

Für den Bacillus cyanogenus, den Erzeuger der blauen Milch, wies HÜPPE ein ähnliches Verhalten der Farbstoffbildung gegenüber verschiedenen Nährböden nach.

Der Einfluss des Lichtes auf die Farbstoffproduktion der Spaltpilze ist ein sehr verschiedener. Nach SCHRÖ-

[1]) Erdmann, „Bildung von Anilinfarben aus Proteïnkörpern.“ Journal für prakt. Chemie, 1866, Bd. III. p. 385—407.

[2]) Gessard, Revue scientifique tome 49 No. 19.

TER[1]) ist „Licht zur Bildung des Pigmentes nicht nötig; aber ebensowenig scheint der Abschluss desselben die Entwicklung zu fördern". Dagegen stellte PROVE[2]) für den von ihm im Menschenharn gefundenen Micrococcus ochroleucus fest, dass derselbe bei Lichtabschluss keinen Farbstoff produziert. „Werden farblose Kulturen jedoch dem Einfluss des Lichtes wieder ausgesetzt, so tritt nach 36—48 Stunden eine lebhafte Gelbfärbung derselben ein."

Eine Reihe von Versuchen, die ich in dieser Richtung mit 16 verschiedenen, farbstoffbildenden Spaltpilzen anstellte, ergaben für dieselben im grossen und ganzen eine Bestätigung der angeführten Behauptung SCHRÖTER's. Diese Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt: Von jedem Spaltpilz wurden zwei Strichkulturen auf schräg erstarrte, 10 % Fleischwasserpeptongelatineröhrchen angelegt, von denen die eine Reihe in einen lichtdichten Pappkasten aufgestellt wurde, während die andre Reihe der Kulturen, dem Tageslicht ausgesetzt, zur Kontrole diente. Bei 13 Arten hatte der Lichtabschluss gar keinen Einfluss auf die Farbstoffproduktion; zwei Spaltpilze zeigten eine etwas hellere Nüance als die entsprechenden Kontrolkulturen. Nur bei einem Spaltpilz wurde die Farbstoffbildung durch den Lichtabschluss in hohem Grade gehemmt. Wurde derselbe aufgehoben, so trat die Pigmentbildung nachträglich wieder auf.

Über die Einwirkung des Sonnenlichtes auf letztere liegen Untersuchungen von GAILLARD[3]) vor. Dieselben lieferten das Resultat, „dass das Sonnenlicht der Farbstoffproduktion durch chromogene Mikrobien wenig günstig sei".

---

[1]) Schröter, l. c. pag. 111.

[2]) Prove, „Micrococcus ochroleucus" in Cohn's Beiträgen. Band IV. Heft III.

[3]) Zeitschrift für Hygiene 1889. Bd. 6. pag. 330. J. Raum, Die biologische Bedeutung des Lichtes."

Es fragt sich jedoch, in welchem Grade hierbei die erhöhte Temperatur beteiligt ist.

Dass die letztere einen bedeutenden Einfluss auf die Farbstoffbildung hat, ist bekannt. Einige chromogene Arten bilden bei Bruttemperatur keinen Farbstoff; werden diese farblosen Kulturen nach einigen Tagen aus dem Brütschrank genommen und bei Zimmertemperatur aufbewahrt, so kann der für die einzelne Spaltpilzform charakteristische Farbstoff sich wieder einstellen oder nicht. In letzterem Falle erhält man alsdann eine neue Varietät der betreffenden Art, die auch bei niedriger Temperatur keinen Farbstoff mehr bildet und auf allen Nährböden vollkommen farblos wächst.

Dieses Verhalten ist im allgemeinen jedoch sehr selten und unter 18 verschiedenen, chromogenen Spaltpilzen habe ich es nur einmal beobachtet. Der betreffende Spaltpilz produziert auf Kartoffeln und 2 % Fleischwasserpeptonagaragar einen gelben Farbstoff bei Zimmertemperatur. Die Farbstoffproduktion bleibt bei Bruttemperatur auf den genannten Nährböden aus und tritt auch in einer langen Generationsreihe bei niedriger Temperatur nicht wieder auf. Allerdings ist der Brütschrank, der zur Verwendung kam, vollkommen lichtdicht; allein, da eine Strichkultur desselben Spaltpilzes bei niedriger Temperatur im lichtdichten Pappkasten den gelben Farbstoff sehr schön zur Entwicklung gelangen lässt, so ist es als gänzlich ausgeschlossen zu betrachten, dass der Lichtabschluss das Ausbleiben der Farbstoffproduktion im Brutschrank verschuldet. Dasselbe wird im vorliegenden Fall nur durch die höhere Temperatur bewirkt.

Bemerken möchte ich noch, dass der Beweis für die Lichtdichte des Pappkastens, der bei diesem und den oben angeführten Versuchen zur Verwendung gelangte, dadurch erbracht wurde, dass lichtempfindliche,

photographische Platten, längere Zeit in demselben exponiert, keine Spur von Belichtung zeigten.

Von bekannten, chromogenen Bakterien sind der Bacillus cyanogenus und der Bacillus prodigiosus zu nennen, bei denen die Pigmentbildung bei höherer Temperatur unterbleibt. Es fehlen jedoch Angaben darüber, ob bei Zimmertemperatur der Farbstoff wieder auftritt oder nicht.

Was nun die Verbreitung der farbstoffbildenden Spaltpilze anlangt, so finden sich dieselben äusserst zahlreich in der Luft, im Wasser und im Boden.

Aus der Luft gelangen sie auf Nahrungsmittel, wie Früchte, gekochtes Fleisch und andere, ihrem Gedeihen günstige Nährböden. So entstehen die verschiedensten Farbstoffe auf Kartoffeln, Reis, gekochtem Eiweiss und Stärke. Die blaue und gelbe Milch, der blaue und grüne Eiter sind ebenfalls auf die Thätigkeit genau bekannter Pigmentbakterien zurückzuführen. Besonders interessant ist in dieser Beziehung das durch den Bacillus prodigiosus erzeugte Blutwunder, dessen spontanes Entstehen auf Brot und feuchten Oblaten Jahrhunderte hindurch Furcht und Schrecken verbreitete.

Für das zahlreiche Vorkommen chromogener Keime im Wasser liefern die Untersuchungen ZIMMERMANN's einen instruktiven Beweis. Derselbe isolierte aus dem Chemnitzer Wasserleitungswasser 24 farbstoffbildende und 20 nicht chromogene Arten[1]).

Bei dieser ausgedehnten Verbreitung ausserhalb des menschlichen Körpers ist es natürlich, dass man die chromogenen Spaltpilze in der Mundhöhle des Menschen wiederfindet. Einmal werden sie, der Atemluft beigemengt, bei der Mundatmung — die doch fast nie gänzlich wegfällt — in die Mundhöhle gelangen; andrer-

---

[1]) Zimmermann, „Die Bakterien unsrer Nutz- und Trinkwässer." Chemnitz 1890. I. Reihe.

seits mit dem Wasser und den Nahrungsmitteln ihren Weg in die Mundhöhle finden. Wenn nun auch ein grosser Teil mit der eingeführten Nahrung verschluckt wird und in den Magen gelangt, so wird doch stets noch ein Teil im Munde zurückbleiben.

In demselben sind nun fast regelmässig äusserst günstige Nährbedingungen für weiteres Gedeihen vorhanden. Sind die Verhältnisse in der Mundhöhle normal, so bieten schon abgestossene Epithelzellen, zwischen den Zähnen sitzende Speisereste und der bei gesunden Individuen alkalisch reagierende Speichel sehr günstige Nährböden für die Spaltpilze im allgemeinen. Unter pathologischen Verhältnissen kommen das von Säuren erweichte Zahngewebe, freiliegende Zahnpulpen, entzündlich gereiztes Zahnfleisch und dessen Exsudat als die denkbar vorzüglichsten Nährmedien hinzu.

Zieht man noch die günstigen Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnisse in der Mundhöhle in Betracht, so kann man gewiss nicht über die ungeheure Anzahl von Spaltpilzen erstaunt sein, die sich in der Mundhöhle vorfindet. Stets wird für die zu Grunde gegangenen durch die in der Luft, in Speisen und Getränken vorhandenen Keime Ersatz herbeigeschafft und so zweifelt denn auch MILLER — dem wir den grössten Teil unserer Kenntnisse auf dem Gebiete der Bakteriologie der Mundhöhle verdanken — nicht, dass man schliesslich allen züchtbaren Pilzen, deren Keime in der Luft, im Wasser, auf Nahrungsmitteln vorkommen, auch in der menschlichen Mundhöhle begegnen werde.

Bei der grossen Bedeutung der Spaltpilze in mannigfacher, besonders pathologischer Beziehung ist es natürlich, dass über ihr Vorkommen in der Mundhöhle zahlreiche Untersuchungen vorliegen, von denen diejenigen der Forscher VIGNAL, BIONDI und MILLER als grundlegend zu bezeichnen sind. Sie bereicherten unsre Kenntnis durch die Züchtung einer grossen Anzahl

von Spaltpilzen, die als fast regelmässige Bewohner der Mundhöhle zu betrachten sind. Das besondere Verdienst W. D. MILLER's ist es jedoch, uns über die Bedeutung der pathogenen und gärungerregenden Spaltpilze für die parasitären Erkrankungen der Mundhöhle und speziell der Zähne Aufklärung verschafft zu haben.

Ist es nun ganz erklärlich, dass das Interesse der Forscher sich fast ausschliesslich den so wichtigen, pathogenen Spaltpilzen zuwendet, so kann es bei der grossen Zahl von Spaltpilzarten, die sich in der Mundhöhle befinden, wohl nur von Vorteil sein, wenn aus dieser Zahl eine kleine Gruppe herausgegriffen und von andern Gesichtspunkten aus untersucht wird. Einmal erfährt auf diese Weise das bei bakteriologischen Untersuchungen der Mundhöhle sich darbietende, ungeheure Material eine Einschränkung, die es ermöglicht, die einzelnen, isolierten Arten nicht nur als solche gründlich zu untersuchen, sondern auch mit schon bekannten und genau beschriebenen zu identifizieren. Andrerseits nimmt die von mir gewählte Gruppe der farbstoffbildenden Spaltpilze ein gewisses Interesse für sich in Anspruch, indem einige Autoren sie als Urheber der im Munde zu beobachtenden Pigmentierung des kariösen Zahngewebes ansehen.

Bakteriologische Untersuchungen von diesem Gesichtspunkte aus sind bisher nur von MILLER angestellt worden. Die von ihm isolierten, chromogenen Pilze sind jedoch biologisch nicht besprochen und auch auf ihre Identität mit bekannten chromogenen Arten nicht näher geprüft worden, bis auf eine Art, die sich als identisch mit dem Bacillus pyocyaneus erwies.

Die vorliegende Arbeit bezweckt nun, insofern einen kleinen Beitrag zur Kenntnis der Systematik der chromogenen Mundpilze zu liefern, als sie einerseits feststellen soll, welche chromogene Arten in der Mundhöhle gefunden werden, andrerseits eine möglichst ein-

gehende, biologische Beschreibung derjenigen farbstoffbildenden Spaltpilze zu bringen versuchen wird, deren Identität mit bekannten Arten nicht festzustellen war.

Durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Professor Dr. STRÜMPELL standen mir zu den Untersuchungen 16 Fälle aus der inneren Klinik des Krankenhauses zu Erlangen zur Verfügung.

Als geeignetste Untersuchungsobjekte wurden kariöser Zahninhalt, Speichel, abgestossne Zahnsteinstückchen und sogenannter schmieriger Zahn- und Zungenbelag verwandt.

Während der Speichel direkt in sterilisierte Reagensgläser aufgefangen wurde, wurde das übrige Material mittels sorgfältig sterilisierter Instrumente den Mundhöhlen entnommen und in Reagensröhrchen gebracht, die etwas sterilisiertes Wasser enthielten. Von diesen Aufschwemmungen wurden alsdann die üblichen drei Verdünnungen mit 10 % Fleischwasserpeptongelatineröhrchen hergestellt, die zur Anlegung der Plattengüsse dienten. Im ersten Falle gelangte die bekannte, von KOCH angegebene Plattengussmethode zur Anwendung; allein bald stellte sich heraus, dass beim Öffnen der feuchten Kammer und Beobachten der Platten chromogene Keime aus der Luft auf jene niederfielen, wodurch natürlich das Resultat gestört wurde.

Es gelangten daher für die folgenden Fälle die von PETRI[1]) angegebenen Doppelschalen zur Verwendung. Dieselben brauchen zur makroskopischen Betrachtung der aufgehenden Kolonieen nicht geöffnet zu

[1]) Zentralblatt für Bakteriologie 1887. Nr. 9.

werden; auch lässt sich die Zeit des Offenstehens der Schalen während der mikroskopischen Betrachtung und des Abimpfens durch die leichte Handhabung der als Deckel dienenden Oberschale auf ein Minimum reduzieren.

Binnen kurzem entwickelten sich auf den Plattengüssen zahlreiche Kolonieen, von denen nur diejenigen behufs Erlangung einer Reinkultur abgeimpft wurden, die durch ihre Farbe besonders auffielen.

Gleichzeitig beschäftigte sich mein Kollege, Herr Zahnarzt Rosenthal mit bakteriologischen Untersuchungen der Mundhöhle; als Material dienten ihm Ausspülungen derselben mit sterilisiertem Wasser. Einzelne chromogene Spaltpilzkolonieen, die auf den Plattengüssen aufgingen und deren oberflächliche Betrachtung vermuten liess, dass sie mit den oben erwähnten, chromogenen Kolonieen identisch wären, überliess mir Herr Rosenthal in dankenswerter Weise zur Herstellung von Reinkulturen und zur weiteren, genauen Untersuchung.

Nachdem die makroskopische und mikroskopische[1]) Beobachtung das Vorhandensein einer Reinkultur der abgeimpften Spaltpilze ergab, wurden für jede auf diese Weise erlangte, chromogene Art Stich- und Strichkulturen auf 10% Fleischwasserpeptongelatine, 2% Fleischwasserpeptonagaragar und auf Kartoffeln angelegt und bei Zimmer- bezw. Bruttemperatur gehalten. Die Kartoffeln gelangten als Nährboden stets in Keilform nach der von GLOBIG[2]) und ROUX angegebenen Me-

[1]) Hierbei benützte ich ein Mikroskop von Leitz, das bei schwacher Vergrösserung (Okular I, Objectiv III) eine 65fache, bei Okular I bezw. III und homogener Ölimmersion eine 525- bezw. 1000fache Vergrösserung gewährte. Alle Messungen nahm ich mit einem Hartnack'schen Mikroskop bei 600facher Vergrösserung mittels eines Okularmikrometers vor.

[2]) Günther, „Einführung in das Studium der Bakteriologie“ p. 107.

thode zur Verwendung; ein Stückchen Watte am Boden des Reagensglases diente zum Aufsaugen des Kondensationswassers.

Diejenigen Spaltpilze, welche nur auf einem der genannten Nährböden einen Farbstoff produzierten, schloss ich von der weiteren Untersuchung aus und beschränkte mich nur auf Arten, die auf allen drei Nährböden einen charakteristischen Farbstoff abschieden.

War das Wachstum der einzelnen Reinkulturen genügend weit vorgeschritten, so bildeten, ausser den charakteristischen Entwicklungsmerkmalen auf den verschiedenen Nährsubstraten, die morphologischen Eigenschaften, der produzierte Farbstoff und seine Reaktion gegen Säuren und Alkalien, die Anwendbarkeit der sogenannten GRAM'schen Färbungsmethode — die hauptsächlichsten Anhaltspunkte, die bei der Identifizierung jeder einzelnen Spaltpilzart mit einer ihr ähnlichen, genau beschriebenen berücksichtigt wurden. Bei dieser Vergleichung benützte ich die Beschreibungen, welche EISENBERG in seiner „Diagnostik der Spaltpilze" von über 300 verschiedenen Spaltpilzen zusammengestellt hat.

In ausgiebigster Weise standen mir dabei die Erfahrungen des Herrn Privatdozenten Dr. med. et phil. HAUSER zur Seite, unter dessen Leitung ich die vorliegenden Untersuchungen in dem anatomisch-pathologischen Institut hiesiger königlicher Universität ausführte.

Ich erlaube mir, an dieser Stelle Herrn Dr. HAUSER meinen herzlichsten Dank für die reiche Unterstützung auszusprechen, die er mir bei denselben hat zu teil werden lassen.

Nach der angegebenen Methode gelang es mir nun, 18 verschiedene, chromogene Spaltpilze aus den Mundhöhlen zu züchten. Bei 14 Arten konnte die Identität mit genau bekannten Arten festgestellt werden; bei den übrigen vier war dies jedoch nicht möglich, obwohl noch

in der einschlägigen Litteratur Umschau gehalten und besonders die Originalbeschreibungen derjenigen Spaltpilzarten herangezogen wurden, die bisher aus der Mundhöhle des Menschen isoliert worden sind.

Ich gehe nun zunächst zur Aufzählung der identifizierten Arten über und folge, soweit keine besondere Litteraturquelle angegeben ist, bei der Angabe der Farbstoffproduktion und des bisherigen Fundortes der in EISENBERG's „Diagnostik der Spaltpilze" gegebenen Beschreibung.

I. Sarcina flava.

Die Sarcine bildet einen gelben Farbstoff und wird häufig aus der Luft erhalten. LINDNER[1]) beschreibt ihr Vorkommen im Bier.

II. Sarcina lutea.

SCHRÖTER[2]) und FLÜGGE[3]) erhielten diese Sarcine sehr häufig aus dem Zimmerstaub und der Luft. Dieselbe produziert einen schwefelzitronengelben Farbstoff und färbt nach KRÁL's[4]) Beobachtungen farblose Nährgelatine schwach weingelb.

Über das Vorkommen der Sarcine im Wasser berichtet ZIMMERMANN[5]), der sie aus dem Wasser der Chemnitz isolierte.

---

[1]) Lindner, „Die Sarcineorganismen der Gärungsgewerbe." Dissertation. Berlin 1888.

[2]) Schröter, „Kryptogamenflora von Schlesien" Band III. Heft 2 p. 154 Nr. 167.

[3]) Flügge, „Die Mikroorganismen" p. 179.

[4]) Král, „Anlegung von bakteriologischen Museen." Zeitschrift für Hygiene Bd. V. p. 502.

[5]) Zimmermann, „Die Bakterien unsrer Nutz- und Trinkwasser", I. Reihe p. 88.

III. Sarcina aurantiaca

bildet einen goldgelben Farbstoff; färbt farblose Nährgelatine schwach weingelb.[1])

Bisheriger Fundort: Luft, Berliner Weissbier.

IV. Staphylococcus pyogenes aureus.

Dieser von ROSENBACH zuerst gezüchtete Pilz wird sehr häufig im Eiter, ferner nach ULLMANN's[2]) Untersuchungen in der Luft, im Spülwasser und in der Erde gefunden. In der menschlichen Mundhöhle ist er von allen Forschern mehr oder weniger häufig beobachtet worden. Anfänglich weiss wachsend erzeugt der Staphylococcus nach 2—3 Tagen einen orangegelben Farbstoff.

V. Diplococcus citreus liquefaciens.

Diese chromogene Mikrobe bildet einen hellgelben Farbstoff und ist von UNNA und TOMMASOLI auf der menschlichen Haut bei Ekzema seborrhoicum gefunden worden.

VI. Micrococcus flavus liquefaciens.

FLÜGGE[3]) erhielt diesen Pilz nicht selten aus Luft und Wasser; derselbe bildet einen intensiv gelben Farbstoff.

VII. Micrococcus luteus (COHN),

Synon. Bacteridium luteum (SCHRÖTER).

COHN und SCHRÖTER[4]) fanden den Micrococ-

---

[1]) Král l. c. p. 502.

[2]) Ullmann, „Die Fundorte der Staphylococcen.“ Zeitschrift für Hygiene Bd. IV. p. 55.

[3]) Flügge, „Die Mikroorganismen“ p. 174.

[4]) Kryptogamenflora von Schlesien Bd. III. Heft 2 Nr. 126.

cus, der einen intensiv gelben Farbstoff erzeugt, häufig im Zimmerstaub und im Wasser.

VIII. Micrococcus aurantiacus (COHN),

Synon. Bacteridium aurantiacum (SCHRÖTER) bildet einen orangegelben Farbstoff und ist von SCHRÖTER[1]) häufig im Zimmerstaub gefunden worden.

IX. Micrococcus agilis

erzeugt ein rosenrotes Pigment und wurde von ALI COHEN[2]) aus Trinkwasser gezüchtet, der an ihm die bei Micrococcen sehr seltene Eigenbewegung nachwies.

X. Micrococcus carneus.

Diese chromogene Spaltpilzform fand ZIMMERMANN im Wasser der Chemnitzer Wasserleitung und erklärt sie als vielleicht identisch mit einem roten Coccus, den MASCHEK aus dem Leitmeritzer Trinkwasser isolierte; der Pilz produziert einen tief fleischroten, etwas ins Violette gehenden Farbstoff. Diesen und den folgenden Micrococcus

XI. Micrococcus cremoides

beschreibt ZIMMERMANN[3]) ausführlich unter Nr. 34 und 32 der ersten Reihe seiner aus Nutz- und Trinkwässern gezüchteten Bakterien. Der Micrococcus cremoides bildet einen crêmefarbigen Farbstoff.

---

[1]) Schröter, Kohns „Beiträge zur Biologie der Pflanzen“ Bd. I. Heft 2 p. 119.

[2]) Centralblatt für Bacteriologie Bd. VI. p. 33.

[3]) Zimmermann l. c. Nr. 34 und 32.

XII. Bacillus fluorescens liquefaciens.

Dieser Pilz bildet einen grünlichen, fluorescierenden Farbstoff. Die Gelatine erhält eine grünlich fluorescierende Färbung; auf Kartoffel entsteht ein nicht charakteristischer bräunlicher Belag. Eingehende Beschreibungen finden sich bei FLÜGGE[1]), der den Bacillus ausserordentlich häufig in den verschiedensten faulenden Substraten und im Wasser fand; ferner bei ZIMMERMANN[2]), der ihn sehr oft im Wasser der Chemnitzer, Döbelner und Leipziger Wasserleitung beobachtet hat.

XIII. Bacillus fuscus.

Diesen Pilz isolierte ZIMMERMANN[3]) aus dem Wasser und erklärt ihn als wahrscheinlich identisch mit dem von SCHRÖTER[4]) aus einer faulenden Infusion von Maiskörnern erhaltenen Bacterium brunneum und dem von FLÜGGE[5]) erwähnten Bacillus fuscus.

Der erzeugte Farbstoff ist braun.

XIV. Rosahefe.

Dieselbe wächst mit rosaroter Farbe, wird sehr häufig in der Luft gefunden und ist nach EISENBERG auch schon aus der menschlichen Mundhöhle isoliert worden.[6])

---

[1]) Flügge l. c. p. 289.
[2]) Zimmermann l. c. p. 22, 23.
[3]) Derselbe p. 70, 71.
[4]) Schröter in Cohns Beiträgen Bd. I. Heft 2 p. 120.
[5]) Flügge l. c. p. 290.
[6]) Eisenberg, „Diagnostik der Spaltpilze“ pag. XXX und sub Nr. 337.

Bevor ich nun zur genauen biologischen Beschreibung der vier Spaltpilzarten übergehe, die ich als neue Spezies hinstelle, möchte ich noch einige allgemeine Bemerkungen vorausschicken, die sich auf die Beobachtungsmethode beziehen. Zum Plattenguss und zu den Stichkulturen musste in den heissen Monaten Juli und August an Stelle der allgemein gebräuchlichen 10 % eine 12 % Fleischwasserpeptongelatine treten.

Ich werde dies in den einzelnen Fällen noch besonders erwähnen. Als Nährboden gelangten ferner zur Verwendung: 2 % Fleischwasserpeptonagaragar, Fleischwasserbouillon, nach der schon angegebenen Methode zubereitete Kartoffeln, Rinderblutserum und festes Alkalialbuminat. Letzteres wird nach der Angabe von TARCHANOFF[1]) und KOLESINKOFF folgendermassen gewonnen: „Hühnereier werden 14 Tage lang mit der Schale in eine 10 % Lösung von Kalihydrat gelegt, wodurch das Eiweiss gelatineartig fest wird und einen Stich ins Gelbliche erhält, dabei aber durchsichtig bleibt. Dasselbe wird dann in feine Lamellen zerschnitten und nach Art der Kartoffelscheiben behandelt. Die Sterilisation erfolgt im Dampfapparat."

Um das Sauerstoffbedürfnis der einzelnen Arten festzustellen, wurden auf Gelatinestichkulturen $1^1/_2$ bis 2 cm hohe Schichten sterilisierten Öles gegossen. Diejenigen Arten, die die Luft nicht oder nicht unbedingt zu ihrer Entwicklung nötig haben, also facultativ anaërob sind, entwickeln sich unter der Ölschicht weiter, während andere, welche ohne ungehinderten Sauerstoffzutritt nicht zu wachsen vermögen, also obligat aërob sind, nicht gedeihen.

Kulturen ein und derselben Spezies in Fleischwasserbouillon wurden bei 5—7° C., bei 15—18° C. und bei 35—38° C. gehalten. Eine Vergleichung des

[1]) Eisenberg l. c. Seite 8 des Anhangs „bacteriolog. Technik".

Wachstums ergab diejenige Temperatur, welche der Entwicklung der betreffenden Art am günstigsten bezw. ungünstigsten war. Das Verhalten der Pilze gegen höhere Temperaturen wurde im Wasserbade geprüft, dessen Niveau stets höher gehalten wurde, als der Inhalt der hineingestellten Reagensröhrchen war.

Um den Einfluss des Lichtes auf die Farbstoffbildung zu ermitteln, wurde, wie bei dem in der Einleitung erwähnten Versuche, eine Reihe von Gelatinestrichkulturen einer bestimmten Art im lichtdichten Pappkasten aufbewahrt, eine andre Reihe mit derselben Art geimpft zur Kontrole dem Tageslicht ausgesetzt.

Die Bestimmung der Farbe des Pigments, welches die einzelnen Arten auf den verschiedenen Nährböden produzieren, geschah nach einer Farbentafel, welche die Dr. SCHÖNFELD'sche Farbenfabrik in Düsseldorf herausgiebt. Es ist dadurch eine Farbenbenennung geschaffen, die ein späteres, etwaiges Vergleichen der Farbstoffe in Ermangelung von Originalkulturen bedeutend erleichtert.

Micrococcus nova Spezies I.

Auf einem mit Speichel angelegten Agar-Agar-Plattenguss entwickelten sich bei Bruttemperatur einzelne in Farbe und Bau übereinstimmende Kolonieen; dieselben fielen durch ihre schöne Fleischfarbe auf. Ähnliche Kolonieen gingen auch auf einem Gelatineplattenguss auf, den Herr Rosenthal von einer Mundausspülung mit sterilisiertem Wasser herstellte.

Das makroskopische und mikroskopische Verhalten der Reinkulturen ergab, dass alle genannten Kolonieen von ein und derselben Mikrobe erzeugt wurden.

Morphologische Merkmale.

Die Mikrobe bildet vollkommen runde Zellen, welche teils einzeln, teils zu zweien als Diplococcen vorkommen. Nicht selten bilden 4 bis 6 Zellen ein kurzes Kettchen oder liegen sarcineähnlich, aber nur in einer Ebene nebeneinander und zwar ohne Abplattung, sodass in der Mitte eine kleine, sternförmige Lücke bleibt. Auch eine Zusammenlagerung in unregelmässige Haufen findet statt.

Die Grösse eines einzelnen Coccus schwankt zwischen 0,80 bis 1,25 μ, beträgt also im Mittel ca. 1 μ.

Die Coccen zeigen keinerlei Bewegungserscheinungen; sie färben sich gut mit den gebräuchlichen, wässrigen Anilinfarbstoffen und bleiben nach Anwendung der GRAM'schen Färbungsmethode gefärbt.

Kulturmerkmale.

Das Wachstum des Micrococcus auf einer 10 % Gelatineplattenkultur ist folgendes:

Nach 2 mal 24 Stunden erscheinen auf der Oberfläche der Gelatine dem blossen Auge gerade sichtbare, feine Pünktchen, die sich bei schwacher Vergrösserung als kreisrunde oder ovale Scheiben von körnigem Aussehen mit glatter, scharfer Umrandung darstellen. Nach weiterer Entwicklung in den folgenden Tagen bilden die oberflächlich gelegenen Kolonieen ca. 1 mm grosse, schwach erhabene, fleischfarbene Auflagerungen. Die schwache Vergrösserung lässt jetzt ein dunkles, körniges Zentrum erkennen, welches von einem schmalen, hellen, lichtbrechenden Saum umgeben ist.

Die tiefliegenden Kolonieen zeigen ein vollkommen gleichmässiges Aussehen und sind farblos; sie wachsen in der Folge nicht mehr. Bei den auf der Oberfläche der Gelatine gelegenen Kolonieen tritt die Färbung nach einiger Zeit deutlicher hervor. Das Wachstum ist ein

sehr langsames; eine Verflüssigung oder Erweichung der Gelatine tritt nicht ein.

Die Stichkulturen in 12 % und 10 % Gelatine zeigen im wesentlichen das gleiche Verhalten; es dürfte daher genügen, nur die Wachstumserscheinungen einer 10 % Gelatinestichkultur zu beschreiben.

Am zweiten Tage nach der Impfung bildet sich auf der Oberfläche der Gelatine ein sehr kleiner, schwach knopfförmig erhabner Belag, der erst in den folgenden Tagen die charakteristische Fleischfarbe annimmt.

Von seiner Unterfläche setzt sich der Stichkanal zunächst in Form kleinster, farbloser Körnchen fort, um alsdann in einen feinen Faden auszulaufen; er bleibt ziemlich schlecht entwickelt. Das Wachstum des erwähnten Belages ist ein sehr langsames. Nachdem er die Grösse des Halbdurchmessers des Glasröhrchens erreicht hat, beginnt der Rand sich wallartig aufzuwerfen, während das Centrum flach einsinkt. Jedoch tritt keine Erweichung der Gelatine dabei ein. Durch die bald eintretende, flache Ausbreitung des Randes vergrössert sich der Belag; er erreicht mit dem mehrfach ausgebuchteten, scharfen Rand nach ungefähr 4 — 6 Wochen die Glaswand des Röhrchens. Seine Oberfläche ist von höckriger Beschaffenheit.

3 — 4 Monate alte Kulturen lassen erkennen, dass eine weitere Entwicklung nicht mehr stattfindet; vielmehr ist der Zusammenhang der Pilzkultur vielfach zerrissen und zerstört und der Belag durch die Vertrocknung und Verdunstung der Gelatine muldenförmig eingesunken. Die ursprünglich schön fleischfarbene Färbung des Belages ist sehr stark nachgedunkelt; alte Kulturen zeigen einen gelblichroten Farbenton.

Während so das Wachstum der Mikrobe auf Gelatine ein sehr langsames und dürftiges ist, entwickelt sich dieselbe auf 2 % Fleischwasserpeptonagaragar sehr

schnell und reichlich, besonders bei Bruttemperatur ($36^1/_2{}^0$ C.). Binnen zweimal 24 Stunden entsteht ein die ganze Oberfläche des schräg erstarrten Agar-Agar einnehmender Belag von feucht-glänzendem, schleimigem Aussehen und sehr schöner Fleischfarbe. (Tafel I. Fig. II). Bei Zimmertemperatur nimmt die Entwicklung ungefähr 8 Tage in Anspruch. Auf alten Agarstrichkulturen nimmt der Belag eine schöne ziegelrote Farbe an (Taf. I. Fig. III). Dabei bleibt ein schmaler, fleischfarbener Saum erhalten und auch der Untergrund zeigt nach Entfernung der oberflächlichen Schicht noch den fleischfarbenen Farbstoff.

Auf Kartoffelstrichkulturen bei 15 — 18° C. wächst der Spaltpilz weniger gut. Hier kommt es binnen einer Woche zur Bildung eines erhabenen Belages, der sich langsam über den Impfstrich hinaus verbreitet, im allgemeinen mehr ein Dicken- als ein Flächenwachstum zeigt. Die Farbe dieser Auflagerung ist als annähernd wachsgelb zu bezeichnen. (Tafel I. Fig. I.)

Da der produzierte Farbstoff in Wasser löslich ist, so nimmt die am Boden des Reagensglases befindliche Watte eine geringfügige, wachsgelbe Verfärbung an.

Die Fleischwasserbouillonkultur zeigt nach 6 — 8 Tagen eine allmählich stärker auftretende Trübung und scheidet eine geringe, fleischfarbene Bakterienmasse ab, die, am Boden liegend, beim Schütteln des Röhrchens in Form eines langen, sich spiralig windenden Fadens aufsteigt.

Auf Blutserum entsteht bei Bruttemperatur längs des Impfstriches ein feines, farbloses, dünnes Häutchen innerhalb 24 Stunden. Dasselbe breitet sich schnell über die ganze Oberfläche des Serums aus. Nach 4 Tagen tritt eine Verflüssigung des Serums ein und in der verflüssigten Zone schwimmt das in einzelne

kleine Flocken zerrissene Häutchen. Die Kultur zeigt eine stark alkalische Reaktion.

Auf Alkalialbuminat vermag die Mikrobe nicht zu gedeihen.

Weitere Merkmale.

Der produzierte Farbstoff zeigt auf Gelatine- und Agar-Agar-Nährböden eine schöne Fleischfarbe, auf Kartoffel eine wachsgelbe Farbe. Während erstere bei alten Kulturen einen rötlichen bis ziegelroten Ton annimmt, bleibt letztere noch nach Monaten unverändert erhalten. Beide Farbstoffe verhalten sich gleich bezüglich ihrer Löslichkeit oder Nichtlöslichkeit; beide lösen sich in Wasser, sind jedoch in Alkohol und Äther unlöslich. Ferner zerstört concentrierte Salpetersäure beide Farbstoffe; während jedoch Kalilauge den gelben Farbstoff wiederum hervorruft, wird der andere durch Kalilauge rotbraun gefärbt.

Das Licht und die Temperatur haben keinen Einfluss auf die Bildung beider Farbstoffe. Dieselben entstehen sowohl bei Lichtabschluss als auch bei höherer Temperatur: 36° C.

Die Mikrobe ist obligat aërob, sie vermag unter einer $1^1/_2$ cm hohen Ölschicht nicht zu gedeihen.

Auf keinem der zur Verwendung gelangten Nährböden konnte ich durch die Sporenfärbungsmethoden Sporen nachweisen. Die Färbungen wurden sowohl nach der von GÜNTHER[1]), als nach der von HAUSER[2]) angegebenen Methode vorgenommen. Das Verhalten von Bouillonkulturen gegen höhere Temperaturen spricht dafür, dass die Vermehrung des Micrococcus durch Teilung vor sich geht. Eine halbstündige Einwirkung

---

[1]) Günther, „Einführung in das Studium der Bakteriologie“ p. 165—66.

[2]) Münchner mediz. Wochenschrift 1887, Nr 34.

einer Temperatur von 55° C. bewirkt eine gänzliche Abtötung.

Bei einer Vergleichung der vorliegenden Mikrobe mit bekannten Arten kommt nur der von ZIMMERMANN[1]) beschriebene Micrococcus carneus in Betracht. Derselbe ist nach der Beschreibung im Durchmesser 0,83 μ gross; die Coccen zeigen eine traubenförmige Anordnung. Der von mir isolierte Micrococcus ist dagegen 0,80 — 1,25 μ gross; die Zellen bilden Diplococcen, kurze Ketten und unregelmässige Haufen, zeigen jedoch keine „traubenförmige Anordnung". Das Wachstum des Micrococcus carneus ist sehr dürftig bei 30 — 35° C., während der vorliegende Micrococcus bei Bruttemperatur die schnellste und beste Entwicklung zeigt. Ferner produziert der Micrococcus carneus auf Kartoffel einen schön mennigroten, auf Gelatine und Agar-Agar einen tieffleischroten, etwas ins Violette gehenden Farbstoff.

Diese Unterschiede bestimmen mich, die beschriebene Mikrobe und den Micrococcus carneus für nicht identisch zu erklären; in Hinsicht auf die ziegelrote Farbe alter Agarkulturen benenne ich die Mikrobe:

Micrococcus lactericeus.

---

[1]) Zimmermann l. c. Nr. 34.

Micrococcus nova Species II.

Derselbe wurde aus Zungenbelag gezüchtet.

Morphologische Merkmale.

Der Micrococcus ist vollkommen rund und 0,70 bis 1 μ gross. Die Zellen kommen entweder isoliert oder als Diplococcen vor; häufig bilden sie unregelmässige Haufen, während das Auftreten kurzer Ketten seltener ist. Sie färben sich gut mit den wässrigen Anilinfarbstoffen; entfärben sich jedoch nach der GRAM'schen Färbungsmethode.

Kulturmerkmale.

Die Gelatine wird durch diesen Micrococcus verflüssigt, jedoch tritt eine Verflüssigung erst nach 6 bis 8 Wochen ein und hängt von dem Prozentgehalt des Nährbodens an Gelatine ab.

Da nun die im Monat August herrschende hohe Temperatur für die Kulturen eine 12 % Gelatine bedingte, so trat auf den mit 12 % Gelatine angelegten Plattengüssen überhaupt keine Verflüssigung ein. Ich werde daher die Wachstumsmerkmale eines bei Zimmertemperatur gehaltenen Agar - Agarplattengusses beschreiben.

Binnen zwei Tagen entstehen auf der Oberfläche des Agar kleine, schwachgelbliche Punkte, die mit blossem Auge gerade noch zu erkennen sind. Bei schwacher Vergrösserung stellen sie sich als kreisrunde, körnige Scheiben dar, welche jedoch nicht scharf begrenzt sind. Die in der Gelatine eingeschlossenen, tiefliegenden Kolonieen zeigen mannigfache, abweichende Gestaltformen; sie sind farblos und wachsen nur in den ersten Tagen. Die oberflächlichen Kolonieen entwickeln sich langsam weiter, ohne dass ihre Struktur eine Änderung erfährt. Zu bemerken ist noch, dass die Farbe der Kolonieen nach 3 — 4 Tagen deutlicher auftritt; sie

ist nach der Farbentafel als helles Chromgelb zu bezeichnen.

Bei den im September angelegten Gelatinestichkulturen wurde 10 % Gelatine verwandt, da ein störender Einfluss der Aussentemperatur nicht mehr zu befürchten war.

Die Entwicklung einer Gelatinestichkultur geht ziemlich langsam vor sich. Zuerst entsteht auf der Oberfläche der Gelatine eine kleine, knopfförmige, hellchromgelbe Auflagerung. Der Stichkanal ist in Form kleiner Körnchen nur in seinem oberen Teile gut entwickelt; er läuft allmählich in einen blassen Faden aus. Nach 8 Tagen hat sich die Auflagerung auf der Oberfläche ausgebreitet und eine ovale Gestalt angenommen. Das Centrum ist von körniger, höckriger Beschaffenheit und von einer glatten, ebenen Randzone umgeben, welche eine deutliche concentrische Streifung zeigt. Allmählich legt sich der Belag faltig zusammen und sinkt durch die beginnende Erweichung der Gelatine mulden- oder trichterförmig ein. Nach ca. 4 Wochen ist die so entstandene Mulde ungefähr einen cm tief; ihre Wände liegen jetzt der Wandung des Reagensröhrchens dicht an. Von der Unterfläche der Mulde setzt sich der Stichkanal als schwach entwickelter, blasser Faden eine kurze Strecke fort. Erst nach 6—8 Wochen tritt eine wirkliche Verflüssigung der Gelatine ein. Dabei sinkt der central am tiefsten gelegene Teil der muldenförmigen Kultur durch die Verflüssigung der darunter befindlichen Gelatine ein, während die übrigen Teile sich zu einem auf der Oberfläche der Verflüssigungszone schwimmenden Belag vereinigen. Die Verflüssigung der Gelatine schreitet langsam vorwärts. Die verflüssigte Gelatine ist trübe und von der noch festen Gelatine durch die hellchromgelbe, ziemlich mächtige, zu Boden gesunkene Bakterienmasse getrennt.

Auf 2 % Agar-Agar zeigt der Micrococcus eine

rasche und reichliche Entwicklung und zwar ist dieselbe bei Zimmer- und bei Bruttemperatur sich ziemlich gleichbleibend. Längs des Impfstriches entsteht ein schleimiger, feuchtglänzender Belag von hellchromgelber Farbe (Tafel I. Fig. IV). Derselbe bleibt zunächst streng auf den Impfstrich beschränkt und wächst erst allmählich über denselben hinaus.

Im Deckglastrockenpräparat fällt die häufige Anordnung der Coccen zu kurzen Kettchen auf, welche aus 6—8 Stück bestehen.

Auf Kartoffel wächst binnen 8 Tagen sehr langsam ein zunächst geringer, schleimiger, feuchtglänzender Überzug heran. Die Farbe desselben ist eine Nüance dunkler als die der Agar- und Gelatinekulturen und steht der auf der Farbentabelle mit Jaune de Gaude bezeichneten Farbe am nächsten (Tafel I. Fig. V). Während des weiteren Wachstums erfährt der Überzug eine ganz beträchtliche Dickenzunahme und verliert allmählich seine schleimige Beschaffenheit; er wird konsistenter. Das Charakteristische der weiteren Entwicklung besteht nun darin, dass die Masse, die nach ca. 8 Wochen fast die ganze Oberfläche der Kartoffel einnimmt, sich in lauter kleine, dicht neben einander liegende und zusammengedrängte, runde Kolonieen anordnet (Tafel II). Der einen sehr schönen Anblick gewährende Belag ist scharf begrenzt, ca. 1—2 mm dick und lässt sich in grossen, zusammenhängenden Stücken von der Kartoffel abheben, welche sich unter ihm als ganz unverändert erweist. Aus der Löslichkeit des Farbstoffes in Wasser erklärt sich die geringe, gelbe Verfärbung der den Boden des Reagensglases einnehmenden Watte.

In Fleischwasserbouillon bildet sich ein hellchromgelber, ziemlich mächtiger Bodensatz, der beim Schütteln in kleinen Flocken und Fäden aufsteigt. Die Bouillon selbst bleibt vollkommen klar.

Weitere Merkmale.

Der von dem Micrococcus erzeugte, hell chromgelbe Farbstoff ist in Wasser löslich, in Alkohol und Äther unlöslich. Reine Salpetersäure bewirkt eine sofortige Entfärbung; durch concentrierte Sodalösung wird jedoch die ursprüngliche, gelbe Farbe wieder hervorgerufen. Alkalien bewirken keine Veränderung des Farbstoffes.

Auch das Licht und die erhöhte Temperatur haben keinen Einfluss auf die Farbstoffproduktion.

Bei Behinderung des Sauerstoffzutritts vermag der Micrococcus nicht zu gedeihen.

Was das Verhalten der Kulturen bei verschiedenen Temperaturen anbetrifft, so tritt bei 5° C. eine starke Entwicklungshemmung ein; auf der betreffenden Kultur fand ein ausserordentlich spärliches Wachstum statt. Zimmer- und Bruttemperatur erwiesen sich als gleich günstig für die Entwicklung der Kulturen.

Ein einstündiges Erhitzen derselben im Wasserbade auf 50 — 60° bewirkt ein vollkommenes Absterben des Micrococcus. Dieselbe Wirkung hat eine Temperatur von 75° — 80° bei halbstündiger Einwirkung.

Unter Berücksichtigung des hellgelben Farbstoffes und der Verflüssigung der Gelatine, sowie vorzüglich der morphologischen Eigenschaften können bei einer Identifizierung des isolierten Micrococcus in Betracht kommen: der Micrococcus flavus liquefaciens und der Micrococcus flavus desidens.

Diese beiden von Flügge[1]) beschriebenen Arten bilden auch einen hellgelben Farbstoff. Jedoch tritt bei dem Micrococcus flavus liquefaciens, der ferner sehr grosse Coccen bildet, die Verflüssigung der Gelatine sehr bald ein, indem nach 2 Tagen im Impfstich kugelige, gelbe Kolonieen entstehen, die konfluieren.

---

[1]) Flügge, Die Mikroorganismen p. 174 u. 175.

Der Micrococcus flavus desidens wächst auf Kartoffeln in Form gelbbraun gefärbter Überzüge und entwickelt sich nach Flügge's Beschreibung im Gelatinestich auf der Oberfläche als gelbbrauner, schleimiger Belag, während sich am Grunde des Stichkanals eine konfluierende, porzellanweisse Masse bildet.

Diese Momente lassen es als gänzlich ausgeschlossen erscheinen, dass der vorliegende Micrococcus mit den genannten Micrococcen identisch ist.

Die charakteristische Körnelung der Kartoffelkulturen nebst dem produzierten gelben Farbstoff bestimmen mich, dem Micrococcus den Namen:

Micrococcus citreus granulatus

zu geben.

Bacillus nova Spezies I.

Von einer Mundausspülung mit sterilisiertem Wasser wurde ein Gelatineplattenguss angefertigt, auf welchem eine Anzahl gelbliche Kolonieen aufgingen, die die Gelatine alsbald verflüssigten und derselben einen schwachen, violetten Schimmer verliehen. Als einige Tage später von dem Unterschenkelfleisch eines Kaninchens, welchem eine Aufschwemmung von Staphylococcus pyogenes aureus injiziert worden war, Plattengüsse angelegt wurden, wuchsen neben den typischen, zuerst weiss, dann orangegelb werdenden Staphylococcenkolonieen zahlreiche andre, die schon bei oberflächlicher Betrachtung die Vermutung hervorriefen, dass sie identisch wären mit den einige Tage vorher erhaltenen Kolonieen aus der Mundhöhle. Diese Vermutung wurde durch die makroskopische und mikroskopische Untersuchung und durch Vergleichung der Reinkulturen bestätigt.

Morphologische Merkmale.

Die die Kolonieen erzeugenden Bazillen sind 1 bis 2,50 μ lang und ca. 0,70 μ breit; ihre Enden sind ab-

gerundet. Häufig bilden drei bis vier Bazillen gerade Fäden; doch lässt sich die Zusammensetzung derselben aus den einzelnen Stäbchen nicht stets deutlich erkennen.

Da die Grösse der Stäbchen und die Farbenbildung bei den verschiedenen Nährboden variiert, so werde ich bei der Besprechung der Wachstumsmerkmale auf jedem einzelnen Nährboden die Grösse der auf ihm sich entwickelnden Stäbchen besonders angeben.

Alte Kulturen zeigen fast stets sogenannte Involutionsformen.

Im hängenden Tropfen kann nur eine geringe Molekularbewegung der Stäbchen wahrgenommen werden; Eigenbewegung kommt ihnen nicht zu.

Sie färben sich gut mit den gebräuchlichen, wässrigen Anilinfarbstoffen und bleiben auch nach Anwendung der GRAM'schen Färbungsmethode gefärbt.

Kulturmerkmale.

Das Wachstum auf einem 10 % Gelatineplattenguss gestaltet sich folgendermassen:

Binnen 24 Stunden entwickeln sich auf der Platte feine, blasse Pünktchen, die so rasch anwachsen, dass bereits nach 2 bis 3 Tagen die Kolonieen durchschnittlich $1^1/_2$ bis 2 mm im Durchmesser haben. Während die tiefgelegenen, grauen Kolonieen bei schwacher Vergrösserung feinkörnige, runde Scheiben mit scharfer Umrandung darstellen, weisen die oberflächlich gelegenen ein gelbliches, feinkörniges Centrum auf, das von einer hellen, schmalen Zone mit gekerbtem Rande umgeben ist.

Am dritten Tage tritt die gelbe Farbe der Kolonieen deutlich hervor; am folgenden beginnt bereits die Kolonie durch Erweichung der Gelatine muldenförmig einzusinken. Mit der rasch vorwärts schreitenden Erweichung und der folgenden Verflüssigung der Gelatine bildet sich um die schwach eingesunkene Kolonie ein immer grösser werdender Hof von verflüssigter Gelatine.

Dieselbe zeigt einen schwach violetten Schimmer, der jedoch deutlicher hervortritt, wenn nach ca. 8 Tagen die ganze Gelatineplatte verflüssigt ist. Die Platte entwickelt dann auch einen starken, unangenehmen Geruch.

Die Grösse der Bazillen beträgt:

1 — 1,25 μ.

Die auf Gelatinenährböden rasch eintretende Verflüssigung hindert, den Bau der Kolonieen genauer kennen zu lernen; derselbe lässt sich daher sehr gut auf Agar-Agar beobachten. Die im Agar eingeschlossenen Kolonieen erscheinen, wie auf Gelatineplatten, als graue, gleichmässig-körnige, runde Scheiben; die oberflächlichen lassen dagegen bei vorgeschrittnem Wachstum ausser der das körnige Centrum umgebenden, schmalen, hellen Zone noch einen grobkörnigen, stark lichtbrechenden Aussenring erkennen.

Die Umrandung des letzteren ist sehr unregelmässig, mehrfach gezackt und zerklüftet. Im allgemeinen sagt der Agar den Bazillen als Nährboden nicht zu; die oberflächlichen Kolonieen erreichen im Durchmesser eine Grösse von ca. 2 mm. Auch hier entwickelt sich ein starker übler Geruch.

Die Grösse der Stäbchen schwankt zwischen 1,25 — 2 μ.

Auf Gelatinestichkulturen bildet sich binnen 2 Tagen auf der Oberfläche ein zunächst wachsweisser, unregelmässig gestalteter Belag von schleimiger Beschaffenheit. Allmählich nimmt derselbe eine gelbliche Färbung an, die nach der Farbentabelle als Neapelgelb zu bezeichnen ist. Innerhalb einer Woche wächst der Belag bis an die Wandungen des Glasröhrchens; der Stichkanal erscheint als feiner, farbloser Faden und lässt sich ca. 1 — $1^1/_2$ cm tief verfolgen. Nach 10—12 Tagen beginnt die Verflüssigung der Gelatine einzutreten und die beschriebene Auflagerung sinkt dadurch allmählich ein; jedoch bleibt ein feines Häutchen noch eine kurze

Zeit lang auf der Oberfläche schwimmend zurück. Bald sinkt auch dieses zu Boden und auf demselben befindet sich nun eine ca. 1 mm dicke Ablagerung gelblicher Bakterienmasse und bildet die Scheidewand zwischen fester und verflüssigter Gelatine. Eine Stichkanalentwicklung ist nicht mehr vorhanden. Die verflüssigte Gelatine ist trüb und zeigt einen deutlichen, violetten Schimmer, der von der Ablagerung aus auch abwärts in die feste, klare Gelatine diffundiert. Das weitere Wachstum geschieht alsdann in der Weise, dass mit der allmählich fortschreitenden Verflüssigung die Bakterienmasse immer tiefer sinkt, sodass nach ca. 6—8 Wochen die ganze Gelatine im Röhrchen verflüssigt ist und die Bakterienmasse den Boden des letzteren bedeckt. Der erwähnte violette Schein ist nur bei jungen Stichkulturen wahrnehmbar; bei 5 Wochen alten Kulturen ist er gänzlich verschwunden.

Grösse der Bazillen: 1—1,25 μ.

Auf 2 % Agar-Agarstrichkulturen ist das Wachstum des Bacillus von der Temperaturhöhe nicht beeinflusst; es bleibt jedoch bei Bruttemperatur die Farbstoffbildung fast gänzlich aus. Bei Zimmertemperatur entwickelt sich in zwei Tagen ein feuchtglänzender, schleimiger, hautartiger Überzug, der die ganze Oberfläche des schräg erstarrten Agar-Agar einnimmt und eine neapelgelbe Farbe aufweist (Tafel I. Fig. VII).

Wie bereits erwähnt, bleibt diese Farbstoffproduktion bei Bruttemperatur aus; sie tritt jedoch nachträglich wieder hervor, wenn die betreffende Kultur längere Zeit hindurch bei Zimmertemperatur gehalten wird.

Grösse der Bazillen: 1,25—2 μ.

Auf Kartoffelkulturen entsteht binnen zwei bis drei Tagen eine sehr reichliche, feuchtglänzende, neapelgelbe Auflagerung (Tafel I. Fig. VI). Ihre Konsistenz ist schleimig. Im weiteren Verlauf des Wachstums breitet sich die Auflagerung über die ganze Oberfläche der

Kartoffel aus. Durch die Löslichkeit des Farbstoffes im Wasser erhält die am Boden des Reagensglases liegende Watte eine gelbe Färbung.

Die Grösse der Bazillen beträgt durchschnittlich 2,50 μ. Oft bilden 3 bis 4 Bazillen, aneinander gereiht, dementsprechend lange Fäden.

Diese Fadenbildung tritt deutlicher in Bouillonkulturen bei Zimmertemperatur auf; hier lassen sich in Präparaten Fäden bis zu 20 μ Länge beobachten. Eine Trennung der einzelnen Stäbchen ist sehr selten deutlich zu erkennen.

Die Bouillon wird binnen zwei Tagen trübe; auf ihrem Grunde entwickelt sich ein ziemlich starker, neapelgelber Bodensatz, der beim Schütteln der Kultur in langen Fäden aufsteigt. Letztere verbreitet einen sehr starken, unangenehmen Geruch.

Auf Blutserum bildet sich innerhalb 24 Stunden ein dünner, schleimiger, weisser Überzug längs des Impfstriches. Allmählich wird das Serum verflüssigt und in ihm schwimmen alsdann einzelne, fast durchscheinende Häutchen. Die Kultur zeigt eine stark alkalische Reaktion und entwickelt einen starken Fäulnisgeruch.

Grösse der Bazillen: 1,25 — 3 μ.

Der Bacillus bildet, wie die Verflüssigung der Gelatine und des Blutserums beweist, ein peptonisierendes Ferment; und zwar treten, besonders auf Blutserum, auch gasige, übelriechende Produkte dabei auf.

Auf festem Alkalialbuminat findet so gut wie gar keine Entwicklung statt, wahrscheinlich wegen des hohen Alkaligehaltes.

Weitere Merkmale.

Der von dem Bacillus gebildete Farbstoff löst sich leicht in Wasser; in Alkohol und Äther jedoch nicht. Salpetersäure zerstört den Farbstoff, und Kalilauge be-

wirkt alsdann eine rotbraune Färbung der vorher durch die Säure entfärbten Masse. Lässt man zuerst Kalilauge einwirken, so bleibt der Farbstoff unverändert.

Auf die Bildung desselben üben sowohl höhere Temperatur als auch Lichtabschluss einen hemmenden Einfluss aus und zwar in verschieden hohem Grade. Ich erwähnte schon, dass bei Bruttemperatur die Farbstoffbildung fast ganz ausbleibt; bei Lichtabschluss entwickelt sich der Farbstoff zwar, jedoch viel weniger intensiv als bei Lichtzutritt (Tafel I. Fig. VIII).

Der Bacillus vermag unter einer 2 cm hohen Ölschicht nicht zu gedeihen.

Bei 5—7° C. ist die Entwicklung desselben eine sehr langsame und stark beschränkte, während Zimmertemperatur 15 — 18° C. derselben sehr günstig sind. Bruttemperatur bewirkt, wie erwähnt, ein Ausbleiben der Farbstoffbildung, ohne jedoch dem Wachstum des Pilzes Eintrag zu thun.

Da ein halbstündiges Verweilen der Kulturen im Wasserbade bei 60° ein Absterben des Bacillus herbeiführte und auch durch Sporenfärbungsmethoden keine Sporen nachzuweisen waren, so ist wohl anzunehmen, dass der Bacillus sich durch Teilung vermehrt.

Der von ZOPF[1]) entdeckte und beschriebene Bacillus janthinus, violetter Bacillus, ist mit dem vorliegenden Bacillus nicht identisch, obwohl die morphologischen Eigenschaften beider übereinstimmen. Denn der Bacillus janthinus verflüssigt die Gelatine nicht und bildet auf Gelatine und Kartoffeln direkt violettfarbene Auflagerungen; während der vorliegende Bacillus die Gelatine verflüssigt, mit neapelgelber Farbe wächst und nur jungen Gelatinekulturen einen violetten Schimmer verleiht, der nach einiger Zeit wieder verschwindet.

[1]) Flügge, „Die Mikroorganismen“ p. 291.

Einen Bacillus, welcher einen neapelgelben Farbstoff produziert, hat ZIMMERMANN[1]) aus dem Wasser der Chemnitzer Wasserleitung isoliert. Er bezeichnet ihn wegen seines blassgelben Aussehens auf der Gelatineplatte als Bacillus helvolus. Derselbe verhält sich hinsichtlich seiner kulturellen Eigenschaften dem von mir beschriebenen Bacillus ähnlich, soweit eine Vergleichung an der Hand der genannten Beschreibung der Wachstumserscheinungen möglich ist. Ich kann jedoch beide Bazillen nicht als identisch erklären, da sich in morphologischer Beziehung einige Unterschiede ergeben. Der Bacillus helvolus rotiert um seine Längsachse, eine Erscheinung, welche dem anderen Bacillus vollkommen fehlt; die Dicke des ersteren beträgt 0,50 μ, seine Länge schwankt zwischen 0,75 μ und 4,5 μ, während die entsprechenden Maasse bei dem vorliegenden Bacillus 0,70 μ und 1 — 2 — 3 μ lauten. Ferner ist der von mir auf jungen Gelatinekulturen durchgängig wahrgenommene, violette Schimmer, den der vorliegende Bacillus sowohl der verflüssigten, als auch in etwas geringerem Grade der festen Gelatine verleiht, beim Bacillus helvolus nicht beobachtet, beziehungsweise in der Beschreibung nicht erwähnt. Für den vorliegenden Bacillus schlage ich den Namen vor:

Bacillus griseo-flavus.

Bacillus nova Spezies II.

Derselbe wurde aus Speichel gezüchtet.

Auf dem mit letzterem angefertigten Plattengusse gingen zahlreiche Kolonieen auf, die durch ihren eigentümlichen Bau und ihre gelbe, übereinstimmende Farbe auffielen.

---

[1]) Zimmermann l. c. p. 52 Nr. 21.

Morphologische Merkmale.

Die Bazillen, welche obige Kolonieen erzeugen, sind von sehr verschiedener Länge. Die kürzesten Stäbchen messen 1,25 μ, die längsten bis zu 6 μ und darüber bei einer Breite von 0,70 μ. Oft liegen die an den Enden abgerundeten Stäbchen zu 2 bis 3 neben oder aneinander. Im letzteren Falle bilden sie Fäden, die stets eine deutliche Trennung zwischen den einzelnen Stäbchen erkennen lassen. Bei einer höheren Temperatur und zwar schon bei 26° C. tritt eine ausserordentlich starke Fadenbildung und ein Auswachsen der einzelnen Stäbchen bis zu 6 und 7,25 μ ein. Diese letzteren sind gerade, selten etwas gebogen; die Fäden zeigen die mannigfachsten Biegungen und Schleifen. Ich habe bis zu 90 μ lange Fäden beobachtet.

Im hängenden Tropfen zeigen die Bazillen geringe Molekularbewegung. Sie färben sich mit den gebräuchlichen, wässrigen Anilinfarbstoffen; die GRAM'sche Färbungsmethode bewirkt eine gründliche Entfärbung.

Kulturmerkmale.

Im 10% Gelatineplattenguss sind die Kolonieen nach 24 Stunden als kleinste Punkte eben sichtbar. Dieselben wachsen schnell heran; nach 3 Tagen kann man schon mit blossem Auge die eigentümliche, auffallende Gestaltung der oberflächlichen Kolonieen erkennen.

Die um diese Zeit auftretende Farbe ist mittel Chromgelb.

Die schwache Vergrösserung zeigt einen sehr charakteristischen, lobulären Bau, welcher sich am besten mit dem Bau einer Drüse vergleichen lässt. Die einzelnen Lobuli oder Läppchen sind radiär angeordnet; sie zeigen ein durchaus gleichmässiges, körniges Aussehen und liegen bei grossen Kolonieen oft übereinander, so dass

sie sich zum Teil decken. Der Rand der Lappen ist scharf, jedoch mit zahlreichen, kleinen, zackigen Ausläufern besetzt, die stark lichtbrechend sind. Während die Kolonieen anfangs ein trocknes Aussehen haben und sich mit der Platinöse sehr leicht gänzlich abheben lassen, verliert sich die Trockenheit mit der nach ungefähr 5 Tagen eintretenden Erweichung und Verflüssigung der unter der Kolonie befindlichen Gelatine. Rings um die durch die Verflüssigung einsinkende Kolonie entsteht ein Hof verflüssigter Gelatine. Nach kurzer Zeit beginnt die Kolonie sich aufzulösen, und durch die rasch fortschreitende Verflüssigung ist nach ungefähr 8 bis 10 Tagen die ganze Gelatineplatte verflüssigt.

Denselben lobulären Bau zeigen die Kolonieen auf einem Agar-Agar-Plattenguss besonders deutlich.

In 10 % Gelatinestichkulturen bildet sich auf der Oberfläche zuerst ein ovaler, schwach erhabener Belag, der sich allmählich ausbreitet und ein deutlich gekörntes und gestreiftes Aussehen zeigt. Nach drei bis vier Tagen tritt die chromgelbe Farbe an dem Belage deutlich hervor. Das Wachstum des Stichkanals ist sehr charakteristisch; derselbe setzt sich aus sehr feinen, dicht aneinandergereihten Körnchen zusammen und ist bis auf den Boden des Gelatineröhrchens ganz gleichmässig gut entwickelt. Er ist jedoch vollkommen farblos.

Am fünften Tage tritt eine oberflächliche Erweichung der Gelatine ein, wodurch die erwähnte Ausbreitung ihr bisheriges, trocknes Aussehen verliert und eine feuchtschleimige Beschaffenheit erhält. Der Erweichung folgt alsbald die Verflüssigung, welche muldenförmig nach unten ziemlich schnell fortschreitet, jedoch erst nach einiger Zeit auch die seitlichen Glaswände des Gelatineröhrchens erreicht. Ein Teil des Belages schwimmt auf der nach sieben Tagen ungefähr $1^1/_2$ cm hohen, verflüssigten Gelatinezone, während der übrige Teil auf den Boden der letzteren gesunken ist. Die

verflüssigte Gelatine ist trübe und mit zahlreichen, kleinen, gelblichen Flocken angefüllt. Nach ungefähr vier Wochen ist der ganze Inhalt des Gelatinekulturröhrchens verflüssigt.

Am Boden des letzteren befindet sich alsdann ein mächtiger, flockiger, chromgelber Bodensatz, zu dem sich im Laufe der genannten Zeit sowohl das anfangs auf der Oberfläche schwimmende Häutchen, als die in der Gelatine schwebenden Flocken gesellt haben. Dadurch ist die vorher getrübte, verflüssigte Gelatine vollkommen klar geworden.

Länge der Stäbchen: 1,25 — 2 μ.

Auf Agar-Agarstrichkulturen entwickelt sich bei Zimmertemperatur ein mittel-chromgelber Belag (Tafel I. Fig. IX) und zwar gut und schnell.

Er besitzt anfangs eine stark ausgeprägte, körnige Beschaffenheit und haftet fest an der Agaroberfläche. Er ist von so zäher Konsistenz, dass sich ungemein schwer etwas von ihm mittels der Platinöse entnehmen lässt. Nach drei bis vier Tagen fängt jedoch der Belag an — und zwar von der Basis der Agaroberfläche nach der Spitze langsam fortschreitend — allmählich seine zähe Beschaffenheit zu verlieren und schleimig zu werden. Das ist jedoch nur auf der Oberfläche der Fall; die tieferen Schichten des reichlichen Belages bleiben zäh fest.

Die Länge der Bazillen beträgt

1,25 — 2 μ.

Ganz wesentlich anders gestaltet sich das Wachstum auf Agar-Agar bei Bruttemperatur 37° C. Hier entwickelt sich längs des Impfstriches und streng auf diesen beschränkt binnen 24 — 48 Stunden ein vollkommen farbloser, dünner und sehr feiner Überzug, der dem Agarnährboden keineswegs fest anhaftet. Sowohl im hängenden Tropfen, als im gefärbten Deckglastrockenpräparat zeigen die einzelnen Bazillen eine sehr schwankende Länge von 1,25 μ bis zu 6 μ bei einer

Breite von 0,70 μ. Bei Bruttemperatur zeigen die Bazillen ferner die Neigung, lange Fäden zu bilden, welche bald gerade oder gebogen verlaufen, in eine oder mehrere Schleifen umbiegen und in ihrer Länge zwischen 7 bis 90 μ variieren. Fast stets lässt sich eine deutliche Gliederung der Fäden in die sie zusammensetzenden Stäbchen erkennen.

Auf Kartoffelkulturen wächst der Bacillus bei Zimmertemperatur sehr schnell und reichlich. Wie auf Agar-Agar bei Zimmertemperatur entsteht auf der Oberfläche der Kartoffel eine gekörnte, fest zusammenhängende Ausbreitung. Auch hier tritt allmählich wie auf Agar-Agar eine Erweichung der Auflagerung ein. Dieselbe zeigt jedoch eine andere Nüancierung des Farbstoffes und zwar steht die Farbe dem Goldocker der Farbentabelle nahe, weist jedoch noch einen Stich ins Grüne auf (Tafel I. Fig. X).

Bei Bruttemperatur bleibt auch auf der Kartoffelkultur die Farbstoffbildung aus; dieselbe tritt auch nicht wieder ein, wenn die farblosen Kulturen nachträglich bei Zimmertemperatur gehalten werden. Bei 27° C. entsteht auf der Kartoffel ein, wie erwähnt, farbloser Belag von schleimiger Beschaffenheit. Derselbe breitet sich rasch über die ganze Oberfläche der Kartoffel aus.

Die Länge der einzelnen Stäbchen beträgt 1,25 bis 3 μ. Fadenbildung ist nicht zu beobachten.

Die Fleischwasserbouillon beginnt nach zwei Tagen bei Zimmertemperatur eine deutliche Trübung aufzuweisen und auf dem Boden einen mittel-chromgelben Bodensatz von ziemlicher Mächtigkeit auszuscheiden. Derselbe steigt beim Schütteln des Röhrchens in dichten Flocken auf.

Bei Bruttemperatur bleibt der Bodensatz farblos.

Die Länge der Bazillen beträgt 1,25 — 3 μ. Bei Bruttemperatur tritt Fadenbildung auf; die einzelnen

Fäden sind jedoch bei weitem nicht so lang wie die auf Agar-Agar sich bildenden.

Auf Blutserum entsteht bei 36° C. ein die ganze Oberfläche einnehmender, farbloser, dicker, schleimiger Belag. Nach acht bis zehn Tagen tritt eine Verflüssigung des Serums ein; dasselbe zeigt eine stark alkalische Reaktion.

Die Länge der Stäbchen und die Fadenbildung stimmen mit den auf Agar-Agar bei derselben Temperatur beobachteten überein.

Weitere Merkmale.

Der Bacillus erzeugt auf fast allen Nährböden bei Zimmertemperatur einen mittel-chromgelben Farbstoff; auf der Kartoffel entsteht eine dunklere Nüance mit einem Stich ins Grün. Hinsichtlich ihrer Löslichkeit und chemischen Reaktion verhalten sich beide Farbstoffe gleich. Beide sind in Wasser löslich, in Alkohol und Äther dagegen unlöslich. Concentrierte Salpetersäure bewirkt eine sofortige Entfärbung; jedoch wird die ursprüngliche Farbe durch Kalilauge wieder hervorgerufen.

Auf die Bildung des Farbstoffes hat der Lichtabschluss keinen Einfluss, wohl aber die höhere Temperatur. Dieselbe unterdrückt die Farbstoffproduktion gänzlich; die letztere tritt bei niedriger Temperatur (15 — 20° C.) auf einer farblos gewachsenen Kultur nicht wieder auf. Sie ist vollkommen verloren gegangen. Von einer farblosen Kultur des Bacillus konnte ich durch Abimpfen selbst in einer langen Generationsreihe nur wieder farblose Kulturen erhalten, trotzdem die verschiedenen Kulturen bei niedriger Temperatur aufbewahrt wurden.

Der Bacillus vermag unter Luftabschluss zu gedeihen; derselbe wurde durch eine 2 cm hohe Ölschicht bewirkt, hindert jedoch die Farbstoffbildung gänzlich. Der Spaltpilz wächst im Stichkanal, welcher, bis auf den Boden des Gelatineröhrchens reichend, durchgängig eine

Breite von ca. 2 mm besitzt, in Form kleiner, dicht aneinander gereihter, farbloser Körnchen. Auf dem Boden des Gelatineröhrchens sammelt sich langsam eine grössere Menge derselben an.

Bei 5 bis 7° C. findet eine sehr spärliche und langsame Entwicklung des Bacillus statt; derselben ist die Zimmertemperatur am günstigsten.

Durch die Sporenfärbungsmethoden lassen sich unschwer Sporen nachweisen, besonders bei Kulturen vom Kartoffelnährboden. Die Sporen sind durchgängig oval und bilden sich mittel- oder endständig in den etwas vergrösserten Stäbchen und zwar bei 26° C. schneller als bei 15 — 18° C. Die Widerstandsfähigkeit derselben ist ziemlich gross. Ein halbstündiges Verweilen bei 50° C., ein viertelstündiges bei 75° C. vermag eine sporenhaltige Kultur nicht abzuschwächen. Ein zehn Minuten langes Verweilen bei 100° bewirkt eine Verzögerung der Entwicklung, indem dieselbe erst nach 3 Tagen beginnt. Ein einstündiges Verweilen im Wasserbade bei 100° hat das Absterben des Bacillus zur Folge.

Um den Einfluss des Austrocknens auf die Sporen zu prüfen, wurde nach Dr. HAUSER's Angabe folgende Methode angewandt. Auf ein gut gereinigtes und mehrfach durch die Flamme gezogenes (sterilisiertes) Deckgläschen wird sporenhaltige Flüssigkeit in möglichst dünner Schicht aufgetragen. Eine Anzahl so zubereiteter Deckgläschen werden, nachdem sie an der Luft gut getrocknet waren, in sterilisierte Doppelschälchen bei verschiedenen Temperaturen verschieden lange Zeit aufbewahrt und alsdann derart in einen Gelatineplattenguss gesteckt, dass die angetrocknete Schicht senkrecht zur Oberfläche der Gelatine steht.

Bleibt eine Entwicklung alsdann aus, so ist ein gänzliches Absterben der Sporen eingetreten. Auf diese Weise ermittelte ich für die Sporen des vorliegenden Bacillus, dass dieselben ein achttägiges Austrocknen bei

15—18° C., ein viertägiges bei $26^1/_2$° C. und ein vierstündiges bei 70° C. vertragen. Dagegen entwickeln sich angetrocknete Schichten, welche eine halbe Stunde hindurch einer Temperatur von 100° C. ausgesetzt waren, nicht mehr.

In Hinsicht auf die exquisit schleimige Beschaffenheit der Agar-Agar- und Kartoffelkulturen und den gelben Farbstoff, welchen der vorliegende Bacillus produziert, nenne ich denselben:

Bacillus viscosus ochraceus.

Aus der Zusammenstellung der hauptsächlichsten Fundorte der vorliegenden, isolierten, chromogenen Spaltpilze ist zu ersehen, dass die weitaus grösste Zahl derselben in der Luft und im Wasser, besonders im Wasserleitungswasser, die ausgedehnteste Verbreitung besitzt. Bei der direkten Kommunikation der Mundhöhle mit der äusseren Atmosphäre, ihrer Funktion bei der Nahrungsaufnahme, ist es nicht auffällig, dass man die isolierten Mikroorganismen in der Mundhöhle wiederfindet; ich erwähnte schon die günstigen Nährbedingungen, welche dieselben in der Mundhöhle antreffen.

Für die Rosahefe und den Staphylococcus pyogenes aureus ist das Vorkommen in der Mundhöhle bereits wiederholt nachgewiesen worden. Die Angaben über den Staphylococcus schwanken jedoch. Während BLACK das konstante Vorkommen desselben in fast allen Mundhöhlen betont, fanden ihn VIGNAL, NETTER und MILLER[1]) weit weniger häufig; so NETTER unter 127 Fällen siebenmal und MILLER bei Eiterungsprozessen in 22 Fällen fünfmal, viel seltener jedoch im Munde gesunder Menschen. Diesen letzteren Angaben

[1]) Miller, „Die Mikroorganismen der Mundhöhle“ p. 210.

entspricht der einmalige Befund des Staphylococcus bei den vorliegenden Untersuchungen.

Es liegt jedoch nicht in ihrem Rahmen, auf die Bedeutung der pathogenen Eigenschaften dieses exquisit eitererregenden Mikroorganismus einzugehen, wie überhaupt eine Sonderung der isolierten Spaltpilze in pathogene und nicht pathogene Mundpilze vorzunehmen.

Neben dieser Gruppierungsweise besteht noch eine Einteilung der Mundpilze in eigentliche oder Mundpilze im engeren Sinn und in solche im weiteren Sinn; erstere finden sich in jeder Mundhöhle, während sich die Mundpilze im weiteren Sinn, im Gegensatz zu ihnen, nur zufällig und zeitweise in der Mundhöhle aufhalten. Zu diesen sind die isolierten, chromogenen Spaltpilze zu rechnen.

Was nun die Theorie anbetrifft, dass die Verfärbung des kariösen Zahngewebes auf die Thätigkeit der Pigmentbakterien zurückzuführen sei, so legt die vorangegangene systematische und biologische Darstellung einer Reihe von achtzehn verschiedenen, chromogenen Mundpilzen die Frage nahe: welchen Anteil nehmen dieselben vermöge der ihnen zukommenden, charakteristischen Farbstoffproduktion an der Verfärbung des kariösen Zahngewebes?

Es sei mir gestattet, zunächst auf diese Pigmentierung selbst etwas näher einzugehen.

Dieselbe tritt als eine Begleiterscheinung der Caries der Zähne auf, und zwar lassen sich alle Farbentöne vom hellen Gelb bis tiefen Schwarz an der erkrankten Partie des Zahnes beobachten. Der Grad der Verfärbung steht im innigen Zusammenhang mit dem Verlauf des kariösen Prozesses; je schneller derselbe verläuft, desto hellere Farbentöne treten auf. Die dunklen Farben, braun bis schwarz, sind nur bei einem langsamen Verlauf der Caries zu beobachten.

Zur Erklärung dieser Verfärbungen sind nun eine

ganze Anzahl Theorieen aufgestellt worden; es würde jedoch zu weit führen, dieselben alle anzuführen. Uns interessiert hier nur die oben angeführte Theorie, deren hauptsächlichster Vertreter CLARK ist.

„In derselben Weise, wie das Blutwunder durch den Bacillus prodigiosus erzeugt wird, ferner schwefelgelbe, spanisch grüne, violettblaue oder braune Farben auf Fleisch, Eiweiss, Reis, Kartoffeln durch eine besondre Pigmentgärung verschiedener Bakterien entstehen, sollen — nach CLARK[1]) — auch die Verfärbungen des kariösen Zahnbeins auf die Thätigkeit chromogener Bakterien sich zurückführen lassen.“

Dieser Folgerung tritt jedoch MILLER entgegen, welcher auf Grund seiner schon kurz erwähnten Untersuchungen zu der Ansicht kommt, „dass die Ursache der Verfärbung bei der Zahnkaries genau dieselbe ist, wie die der Verfärbung jeder anderen, organischen Substanz, welche durch Mikroorganismen zersetzt wird und mit der Zeit bekanntlich eine dunkle Farbe annimmt“[2]).

Von den zahlreichen, chromogenen Pilzen, welche MILLER aus der Mundhöhle züchtete, können, wie er erwähnt, nur zwei sich direkt an der Pigmentierung beteiligen, ein mit gelbbrauner Farbe wachsender Bacillus und ein Bacillus, welcher dem Nährsubstrat eine tiefe, gelblich-braune Farbe verleiht; diesen letzteren, noch nicht näher untersuchten Pilz nennt er Bacillus fuscans. Beide Bazillen kommen jedoch viel zu selten in der Mundhöhle vor, als dass ihnen ein wesentlicher Anteil an einer Verfärbung des Zahngewebes zugeschrieben werden könnte. Da diese chromogenen Bakterien, zu

---

[1]) Clark, „The cause of Caries — Bacteria or Acids“ in The Independent Practitioner 1883.

Dieser Vortrag stand mir durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Miller im Original zur Verfügung.

[2]) Miller, „Die Mikroorganismen der Mundhöhle“ p. 71.

denen noch acht verschiedene, einen gelben Farbstoff bildende und fünf, die dem Nährsubstrat eine grüne Farbe verleihen, hinzukommen, in ihrem biologischen Verhalten, wie schon erwähnt, nicht näher besprochen sind, so kann eine Vergleichung mit den durch vorliegende Untersuchungen isolierten, chromogenen Pilzen nicht stattfinden. Es wird daher für dieselben besonders zu ermitteln sein, welche Rolle sie in dieser Frage spielen.

Da nun stets das kariöse Zahnbein selbst verfärbt wird, so können von vornherein nur diejenigen chromogenen Pilze als Urheber des pigmentierten Zahnbeins in Betracht kommen, welche dem Nährsubstrat, auf dem sie gedeihen, eine charakteristische Farbe verleihen. Von den isolierten Arten zeigen dies Verhalten:

Bacillus fluorescens liquefaciens,

der dem Nährboden eine grüne, fluorescierende Farbe verleiht,

die Sarcina lutea und

Sarcina aurantiaca,

welche farblose Nährgelatine schwach weingelb färben.

Der Bacillus nova Species I seu Bacillus griseoflavus ist auszuschliessen, da er nur in jungen Gelatinekulturen einen violetten Schimmer in die Gelatine diffundieren lässt, welche nach vier bis sechs Wochen wieder verschwindet.

Da nun grünes Zahnbein nicht beobachtet wird, so kommt auch der Bacillus fluorenscens liquefaciens in Wegfall, und es bleiben von 18 verschiedenen chromogenen Spaltpilzen nur die beiden genannten Sarcinen übrig, die vermöge ihrer Eigenschaft, einen gelben Farbstoff zu produzieren und den Nährboden schwach weingelb zu färben, direkt sich an der Pigmentierung des kariösen Zahngewebes beteiligen können.

Dieselben wurden bei diesen Untersuchungen ziemlich häufig aus der Mundhöhle isoliert und zwar die Sarcina aurantiaca weit häufiger, als die Sarcina lutea,

fanden sich aber fast nur im Speichel oder Zungenbelag. Auf einem mit kariösem Zahnbein angelegten Plattenguss kam allerdings Sarcina lutea zur Entwicklung; jedoch war die Zahl der Sarcinekolonieen so gering und der Plattenguss zeigte so verschiedene chromogene Spaltpilzkolonieen, dass man in diesem Falle die Sarcine unmöglich als Urheber der gelblichen Verfärbung des Zahnbeins ansehen konnte.

Lassen so die bisherigen Untersuchungen es zum mindesten als zweifelhaft erscheinen, dass die chromogenen Mundpilze die Pigmentierung des kariösen Zahngewebes hervorzurufen im Stande sind, so möchte ich noch betonen, dass die in der Mundhöhle herrschende hohe Temperatur und die bei sekundärer Caries eintretende, beschränkte Sauerstoffzufuhr die Entfaltung der farbstoffbildenden Eigenschaften bei der einen oder andern Art hemmen oder gar ganz vernichten kann, wie dies ausserhalb der Mundhöhle konstatiert ist.

Freilich wird sich eine endgültige Lösung der Frage, inwieweit die chromogenen Mundpilze sich an der Pigmentierung des kariösen Zahnbeins beteiligen, erst ergeben, wenn einerseits über die Natur des produzierten Farbstoffes selbst mehr als bisher bekannt sein wird und andrerseits die Systematik der chromogenen Mundpilze an Umfang gewonnen hat.

Die vorliegenden Untersuchungen dürften ihre Aufgabe erfüllt haben, wenn sie zur Kenntnis der Systematik der chromogenen Mundpilze einen kleinen Beitrag geliefert haben.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, Herrn Professor Dr. REESS für die gütige Übernahme des Referates meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Erklärung zu Tafel I.

Figur	
I. Kartoffelkultur II. Agar-Agarstrichkultur III. Alte Agarstrichkultur	des Micrococcus lactericeus.
IV. Agar-Agarstrichkultur V. Kartoffelkultur	des Micrococcus citreus granulatus.
VI. Kartoffelkultur VII. Agar-Agarstrichkultur VIII. Kartoffelkultur, bei Lichtabschluss gewachsen	des Bacillus griseo flavus.
IX. Agar-Agarstrichkultur X. Kartoffelkultur	des Bacillus viscosus ochraceus.

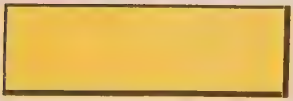
Tafel I.

I.

II.

III.

IV.

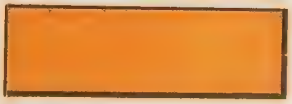
V. 

VI.

VII.

VIII.

IX.

X. 

Tafel II.

Vier Wochen alte Kartoffelkultur
des
Bacillus citreus granulatus.

AUG. VOLLRATH, HOFBUCHDRUCKEREI, ERLANGEN